Product sheet

B-LCL-HROC72 sejtek | 302082

Általános információk

Description	A B-LCL-HROC72 egy Epstein-Barr vírussal (EBV) halhatatlanná tett humán B-limfoblasztos sejtvonal, amelyet felnőtt betegek tumoros szövetéből vagy perifériás véréből izolált B-limfocitákból hoztak létre. A sejteket ex vivo fertőzéssel állították elő EBV-t tartalmazó felülúszóval, amelyet a B95/8 marmoset sejtvonalból nyertek ki ciklosporin A jelenlétében a T- és NK-sejtek növekedésének gátlására. Több hetes tenyésztés után stabil limfoblasztos növekedést értek el, amelynek eredményeként folyamatosan szaporodó monoklonális vagy oligoklonális B-sejt populáció jött létre, amely alkalmas hosszú távú in vitro szaporodásra. Immunfenotípusában a B-LCL-HROC72 érett és aktivált B-sejt profilt mutat, amelyet CD19 és CD20 expresszió, valamint magas szintű aktivációs és érési markerek, például CD23 és CD80 jellemeznek. Az MHC I. és II. osztályú molekulák erős expressziója az antigénprezentáló képesség megőrződését jelzi. Az egyes klónoktól függően változó expressziója figyelhető meg a differenciálódással kapcsolatos markereknek, mint például a CD27, CD38 vagy CD138, ami a B-sejtek érésének különböző stádiumait tükrözi. A sejtek negatívak a T-sejt markerekre, ami megerősíti a vonal specifitását. Funkcionálisan a B-LCL-HROC72 meghatározott izotípusú immunglobulint (pl. IgG, IgM vagy IgA) szekretál, amely hosszan tartó tenyésztés során is stabil marad. A kiválasztott antitestek a tenyészet felülúszójából gyűjthetők össze és felhasználhatók további alkalmazásokhoz, beleértve az antigénkötő vizsgálatokat, a tumorsejt-felismerési tanulmányokat vagy a betegségekkel kapcsolatos antigének azonosítását. EBV-immortalizált B-sejt modellként a B-LCL-HROC72 robusztus in vitro platformot biztosít a humorális immunválaszok, a B-sejtek aktiválása és differenciálódása, valamint az antitestek által közvetített mechanizmusok vizsgálatához a tumorimmunológia vagy a szisztémás immunválaszok kontextusában.
Organism	Emberi
Tissue	Perifériás vér
Disease	Vastagbélrák
Metastatic site	Nem alkalmazható (EBV-vel transzformált B-LCL vastagbélrákos betegtől)
Applications	T-sejt- és NK-sejt-vizsgálatok; HLA-tipizálás; antigénprezentáció; CTL-vizsgálat célsejtjei; vastagbélrákhoz kapcsolódó immunválasz; HROC72 betegekhez illesztett biobanki vizsgálatok

Jellemzők

Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Limfoblaszt-szerű (szuszpenzióban lévő kerek sejtek)
Cell type	B lymphoblast

B-LCL-HROC72 sejtek | 302082

Growth properties	Felfüggesztés

Szabályozási adatok

Citation	B-LCL-HROC72 (Cytion katalógusszám: 302082)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nincs hozzárendelve
GMO Status	GMO-S2: Ez a B-LCL stabilan fenntartott EBV-epizómát tartalmaz (EBNA-1/-2/-3, LMP-1/-2). Az EBV a 2. kockázati csoportba tartozik; BSL-2 biztonsági szintű elszigetelés szükséges. Ez a besorolás Németországon belül érvényes; más országokban az előírások eltérhetnek.

Biomolekuláris adatok

Viruses	Transzformáns: EBV

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki
Subculturing	A lombikban lévő sejtszuszpenziót óvatosan homogenizálja fel-le pipettázással, majd vegyen egy reprezentatív mintát a sejtsűrűség ml-enkénti meghatározásához. A szuszpenziót hígítsa friss tenyésztőközeggel 1 x 10^5 sejt/ml sejtkoncentráció eléréséig, majd az így beállított szuszpenziót új lombikokba osztva továbbtenyésztse.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

B-LCL-HROC72 sejtek | 302082

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.